

EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA INMUNOCROMATOGRÁFICA ICT P.f/P.v PARA EL DIAGNÓSTICO DE MALARIA POR *Plasmodium falciparum* Y *Plasmodium vivax* EN ESTABLECIMIENTOS DE LA MACROREGIÓN NORTE DEL PERÚ

Nancy Arróspide V¹, Wilmer Marquiño Q¹, Sonia Gutiérrez G¹

RESUMEN

Objetivos: Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del ICT P.f/P.v, realizado por personal técnico de salud de tres establecimientos de salud del norte del Perú. **Materiales y Métodos:** El estudio se realizó en la provincia de Sullana y el distrito de La Unión del departamento de Piura, en los centros de salud de Querecotillo, Bellavista y la Arena al norte del Perú, durante los meses de julio a diciembre de 2000. Se incluyeron pacientes mayores de 2 años, con antecedentes de fiebre que acudieron a los establecimientos de salud para diagnóstico de malaria. **Resultados:** Se incluyeron 203 muestras positivas y 140 negativas. La sensibilidad del ICT malaria P.f/P.v para diagnóstico de malaria (independientemente de la especie) fue 87,2% y la especificidad de 99,3%, con un VPP de 99,4% y VPN de 84,2%. Mientras que la sensibilidad para *P. falciparum* fue de 94,0% y una especificidad de 98,5% con una VPP de 95,1% y el VPN de 98,1%. Para el caso de *P. vivax* el ICT presentó una sensibilidad de 75,8 % y una especificidad de 97,8%, con una VPP de 94,8% y su VPN de 88,3%. **Conclusiones:** La prueba inmunocromatográfica ICT en el diagnóstico de malaria alcanzó buenos niveles de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo en el diagnóstico de malaria.

Palabras clave: Malaria/Diagnóstico; Pruebas rápidas/Diagnóstico malaria; Perú (fuente: BIREME).

ABSTRACT

Objectives: To determine sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) of an immunochromatographic test (ICT) for *P. falciparum* and *P. vivax* performed by technical health personnel in three health centers in Northern Peru. **Materials and Methods:** The study was performed in Querecotillo, Bellavista, and La Arena health centers in Sullana province and La Unión district, Piura department, in northern Peru, between June and December 2000. Patients older than 2 years of age with a history of fever who were brought to the health centers looking for a diagnosis of malaria were included. **Results:** 203 positive and 140 negative samples were included. ICT sensitivity for *P. falciparum* / *P. vivax* malaria was (regardless of species) was 87,2%, and specificity was 99,3%, with a 99,4% positive predictive value and a 84,2% negative predictive value. ICT sensitivity for *P. falciparum* malaria was 94,0% and specificity was 98,5%, with a 95,1% PPV and a 98,1% NPV. For *P. vivax*, ICT had a 75,8% sensitivity and a 97,8% specificity, with a 94,8% PPV and a 88,3% NPV. **Conclusions:** Immunochromatographic test (ICT) in the malaria diagnosis reached good levels of sensitivity, specificity, positive and negative predictive value in the malaria diagnosis.

Key words: Malaria/Diagnosis; Rapid test/diagnosis; Peru (source: BIREME).

INTRODUCCIÓN

La malaria es la enfermedad parasitaria tropical más importante en el mundo que produce más muertes luego de tuberculosis. Anualmente ocurren entre 300 a 500 millones de casos (90% en África Subsahariana), y produce entre 1,5 a 2,7 millones de defunciones anuales (cerca de un millón en niños menores de cinco

años en África Subsahariana); en América, cerca de 79 millones de personas vive en zonas de riesgo de transmisión de malaria, que corresponden a los 21 países que reportan transmisión activa de la enfermedad. Durante el año 2000, en el Perú se reportaron 57 650 casos de malaria, predominando la malaria vivax con 71% del total de casos de malaria¹.

¹ Laboratorio de Malaria, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.

Para el diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad, el examen microscópico de sangre, a través de gota gruesa y frotis, es el más usado; sin embargo, está limitado pues requiere por lo menos de 30 minutos y de la experiencia del microscopista para la lectura e interpretación de los resultados, particularmente cuando la parasitemia es baja o en presencia de infecciones mixtas².

En el Perú existe un sobret ratamiento con antimaláricos a pacientes febriles, debido a que se conoce que aproximadamente 15% de éstos, constituyen casos de malaria confirmados por microscopía, la cual, en la mayoría de los casos se realiza en forma extemporánea, dado que para su ejecución, las muestras deben ser transportadas a los laboratorios respectivos, después de que el paciente ha recibido su tratamiento³

En la actualidad se vienen usando pruebas inmunocromatográficas de tipo cualitativo para el diagnóstico rápido de malaria, mediante tiras reactivas comerciales, entre los que se encuentran las que detectan la enzima p LDH del género *Plasmodium* y que permite detectar al parásito vivo en sangre y la proteína p fHRP II que es una proteína de secreción básica rica en histidina presente únicamente en *Plasmodium falciparum*⁴.

La utilidad del uso de pruebas sensibles, específicas, simples y costo efectivas para diagnóstico de malaria son considerables, así por ejemplo un diagnóstico correcto permitirá un tratamiento oportuno y eficaz evitando los sobret ratamientos antes mencionados, los que a su vez generan problemas adicionales como el de resistencia farmacológica⁵. Se han desarrollado varios estudios en áreas endémicas de malaria los cuales han demostrado que esta prueba alcanza buenos niveles de especificidad y sensibilidad para diagnóstico de malaria en general⁶⁻⁹.

El ICT (*Immuno Chromatographic Test*) es una prueba para el diagnóstico rápido de malaria, basada en el inmunodiagnóstico in vitro de la detección de antígenos de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium no falciparum* en sangre entera. Esta prueba utiliza dos anticuerpos, un anticuerpo que es específico la proteína 2 rica en histidina (P.f.HRP2) del *P. falciparum*; y el otro anticuerpo es específico para un antígeno de malaria que es común tanto para la especie de *P. falciparum* y *P. vivax*. La sangre entera (15µL) es aplicada a un área de la tira que está impregnada con anticuerpos agregados a oro coloidal los cuales se dirigen a los dos antígenos de malaria. Cuando se tiene una muestra positiva, los antígenos de malaria

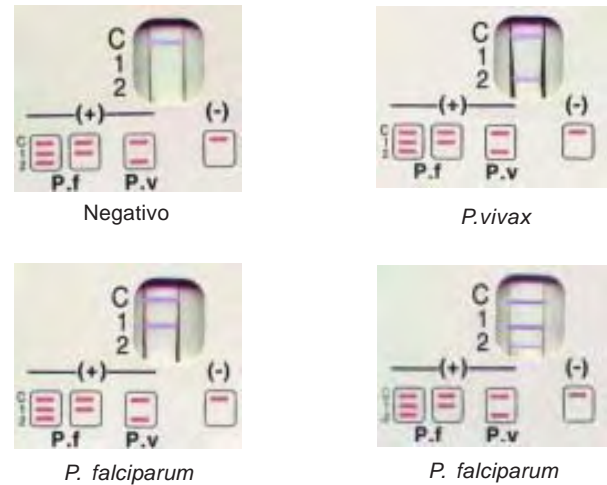


Figura 1. Interpretación de las pruebas de ICT P.f/P.v malaria.

se juntan a los anticuerpos adheridos al oro coloidal en la tira y los complejos inmunes que se forman emigran a lo largo de la lámina de la prueba donde son capturados por los anticuerpos inmovilizados. Una vez que ocurre la captura, se forma una línea rosada traduciendo la reacción positiva a la enfermedad. Si la línea asoma a la línea control, traduce negatividad. La identificación de especies es discernida por la ubicación de las líneas de color en áreas impregnadas con anticuerpo anti *P. falciparum* o anti panmalaria¹⁰ (Figura 1).

El presente estudio tiene como objetivo determinar la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del ICT P.f/P.v, realizado por personal técnico de salud de tres establecimientos de salud del norte del Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este es un estudio de corte transversal prospectivo llevado a cabo en el departamento de Piura en los centros de salud de Querecotillo y Bellavista de la Subregión de Salud Sullana y en el Centro de Salud de la Arena de la Región de Salud Piura I (Figura 2). El tiempo de ingreso de los pacientes al estudio fue durante los meses de julio a diciembre de 2000.

El tamaño de muestra requerido para una sensibilidad de 85% y especificidad de 90% con una aproximación de 5%, con un nivel de confianza de 95% fue de 340 muestras, 200 muestras positivas y 140 negativas.

Se ingresaron pacientes febriles gota gruesa positivos mayores de 2 años de edad no se excluyó ningún paciente. Los controles negativos fueron tomados de



Figura 2. Lugar donde se desarrolló el estudio.

pacientes calificados como clínicamente sanos y que tenían el mismo riesgo de exposición que los que adquirieron malaria. El control de calidad de las tiras en laboratorio, se llevó a cabo eligiendo aleatoriamente un tira por kit, las que fueron 100% sensibles y específicas.

Todos los participantes ingresaron voluntariamente al estudio y firmaron las fichas de consentimiento y asentimiento recomendadas por el comité de ética del INS.

La información obtenida en el estudio fue almacenada y procesada en una base de datos usando el programa SPSS 6,0. Se evaluó la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo, siendo la prueba de oro la gota gruesa.

Los procesos de tinción, lectura e interpretación se efectuaron de acuerdo con el manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico de malaria del INS¹¹.

Los pasos para la correcta ejecución de la prueba rápida se siguieron de acuerdo con las recomendaciones del inserto:

«Obtener sangre por punción digital usando una lanceta estéril para pinchar la piel. Recoger la sangre directamente del tubo capilar que va incluido en la prue-

ba. Acercar el capilar al área lila de la tira para que difunda la muestra sobre ésta. Añadir dos gotas de solución A en el borde superior del área lila donde antes depositó la muestra de sangre. Añadir dos gotas de solución A en el borde inferior del área lila. Esperar que la muestra difunda por la columna hasta alcanzar el borde superior (30seg). Agregar 4 gotas de solución A en el área de la almohadilla (en la otra tapa de la tira). Quitar la cinta adhesiva y cerrar el sobre de la tira. Esperar que se produzca la reacción por la presencia de bandas».

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 343 muestras de las cuales, 203 muestras fueron positivas y 140 negativas. Se excluyeron 11 muestras (dos presentaron malaria mixta y nueve error en el procesamiento del ICT).

La sensibilidad del test ICT P.f / P.v para el diagnóstico global de malaria fue de 87,2 %, la especificidad de 99,3 %, con un valor predictivo positivo de (VPP) 99,4 % y valor predictivo negativo (VPN) de 84,2%.

La sensibilidad para *P. falciparum* fue de 94,0 %, una especificidad de 98,5%, un VPP de 95,1% y el VPN de 98,1%.

Para el caso de *P. vivax* el ICT presentó una sensibilidad de 75,8 %, una especificidad de 97,8 %, un VPP de 94,8 % y un VPN de 88,3%.

DISCUSIÓN

Los resultados hallados son concordantes con los reportados por otros investigadores de otras áreas geográficas, en los que se encuentra en general un buen nivel de sensibilidad y especificidad de la prueba para el diagnóstico de malaria.

La sensibilidad para vivax con el ICT malaria PF/PV™ (AMRCD-ICT Sydney, NSW, AUSTRALIA) es relativamente

Tabla 1. ICT frente a la gota gruesa en el diagnóstico global de malaria

		GOTA GRUESA		Total
		Positivo	Negativo	
ICT	Positivo	177	1	178
	Negativo	26	139	165
Total		203	140	343

Tabla 2. ICT frente a la gota gruesa en el diagnóstico Plasmodium falciparum.

		GOTA GRUESA		Total
		Positivo	Negativo	
ICT	Positivo	81	1	82
	Negativo	2	259	261
Total		83	260	343

Tabla 3.- ICT frente a la gota gruesa en el diagnóstico de *Plasmodium vivax*.

		GOTA GRUESA		Total
		Positivo	Negativo	
ICT	Positivo	95	1	96
	Negativo	25	222	247
Total		120	223	343

baja en relación con otras pruebas como el *OptiMAL*®, dichos resultados han sido corroborados con nuestros hallazgos¹²⁻¹⁴. Se conoce que el nuevo MRDD, *NOW*®ICT malaria P.F/P.V (Binax, Inc, Portland, Maine, USA evaluado por Gasser RA y col 2001, ha alcanzado mejores niveles de sensibilidad y especificidad que su antecesor¹⁵.

Una buena combinación de antígenos parasitarios como pLDH y HRP-2 constituye una buena probabilidad de obtener mejores pruebas rápidas para el diagnóstico de malaria¹⁶.

Las pruebas rápidas disminuyen sus niveles de sensibilidad en caso de bajas parasitemias (menos de 500 p/u), por lo que no resultan ser costo efectivas para el control de la malaria en zonas altamente endémicas ya que existe un buen porcentaje de pacientes asintomáticos que presentan parasitemias por debajo de este límite¹⁷. La baja sensibilidad también puede deberse a una incorrecta aplicación de pasos en la ejecución de la prueba¹⁸.

La presencia de falsos positivos puede deberse a que el ICT detecta como infección activa algunos casos en los cuales el parásito haya sido eliminado por un tratamiento eficaz, debido al fenómeno de antigenemia en virtud al cual la proteína HRP-2 permanece aun circulando en el plasma sanguíneo hasta un periodo de 14 días, entonces la prueba sale positiva por que detecta la proteína circulante en plasma y no al parásito vivo en sangre¹⁷⁻¹⁸, por otro lado, el ICT puede presentar falsos negativos en estadios muy precoces del parásito o en estadios muy avanzados¹⁹ debido a que la secreción de la HRP-2 es muy baja.

Existe mayor reacción cruzada con el factor reumatoideo en pruebas rápidas cuyo fundamento involucra la participación de la proteína HRP-2²⁰. El ICT como cualquier otra prueba rápida, no puede diferenciar estadios parasitarios en desventaja a la

gota gruesa por lo que podemos tener falsos positivos cuando se evalúa el tratamiento a malaria por pruebas ICT, fundamentalmente cuando se ejecuta evaluaciones de eficacia a tratamiento antimalárico con monoterapia. La combinación terapéutica como por ejemplo de artesunato y fansidar (ART + SP) disminuye la parasitemia a cero incluso desde las 24 h de tratamiento²¹ de modo que al seguimiento de dichos pacientes, se presentan casos de falsos positivos a pruebas rápidas como el ICT²².

El mayor o menor número de pasos que tenga una prueba rápida es un dato importante que se debe conocer antes de implementar el uso de una determinada prueba rápida por lo que recomendamos también estudios de conocimientos aptitudes y prácticas de los trabajadores de salud de zonas endémicas de malaria con relación al uso de pruebas rápidas²³.

La prueba inmunocromatográfica ICT en el diagnóstico de malaria alcanzó buenos niveles de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo en el diagnóstico de malaria.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro reconocimiento a las siguientes personas cuya participación permitió una mejor ejecución del estudio: Laura Ilquemiche, Ygor Hermenegildo, Ana María Palacios, Manuel Arrunátegui, Carlos Holguin, Martín Peña, Mariela Vargas Tarrillo, Leobardo Pasapera, Esther Huíman, Armando Carrera, Marcelino Yucra, Enrique Pacherras, Edith Guerrero, Gloria Núñez, Exequiel Vázquez y Marco Gonzáles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Organización Panamericana de la Salud.** Informe de la situación de los programas regionales de malaria en las Américas. Washington: OPS; CD43/INF/1(Esp); 2001.
2. **Moody A.** Rapid diagnostic test for malaria parasites. Clin Microbiol Rev 2002; 15(1): 66-78.
3. **Perú, Ministerio de Salud.** Boletín de malaria, periodo de alta transmisión. Iquitos: Región de Salud Loreto; 1997-1998.
4. **World Health Organization.** A rapid dipstick antigen capture assay for the diagnosis of falciparum malaria. Geneva: WHO; 1995.WHO/MAL/95.1072.
5. **Craig M, Bredenkamp B, Williams C, Rossouw E, Kelly V, Kleinschmidt I, et al.** Field and laboratory

- comparative evaluation of ten rapid malaria diagnostic test. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; 96(3): 258-65.
6. **Bell D, Go R, Miguel C, Walker J, Cacal L, Saul A.** Diagnosis of malaria in a remote area of the Philippines: comparison of techniques and their acceptance by health workers and the community. *Bull World Health Organ* 2001; 79(10): 933-41.
 7. **Tham J, Lee S, Tan T, Ting R, Kara U.** Detection and species determination of malaria parasites by PCR: comparison with microscopy and with ParaSight-F and ICT malaria Pf test in a clinical environment. *J Clin Microbiol* 1999; 37(5): 1269-73.
 8. **Lema O, Carter J, Nagelkerke N, Wangai M, Kitenge P, Gikunda M, et al.** Comparison of five methods of malaria detection in the outpatient setting. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60(2): 177-82.
 9. **Sing A, Rauch E, Roggenkamp A, Autenrieth IB, Heesemann J.** Evaluation of the ICT malaria Pf test for rapid post-mortem diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria in corpses examined for forensic reasons. *Int J Legal Med* 2000; 113(4): 251-52.
 10. **World Health Organization.** New Perspectives in malaria diagnosis. Geneva: WHO; 2000. WHO/MAL 2000.1091.
 11. **Instituto Nacional de Salud.** Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico de malaria. Serie de Normas Técnicas N° 14. Lima; Instituto Nacional de Salud; 1997.
 12. **Iqbal J, Khalid N, Hira PR.** Comparison of two commercial assays with expert microscopy for confirmation of symptomatically diagnosed malaria. *J Clin Microbiol* 2002; 40(12): 4675-78.
 13. **Stow N, Torrens J, Walker J.** An assessment of the accuracy of clinical diagnosis, local microscopy and rapid immunochromatographic card test in comparison with expert microscopy in the diagnosis of malaria in rural Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999; 93(5): 519-20.
 14. **Huong NM, Davis T, Hewitt S, Huong NV, Uyen T, Nhan DH, et al.** Comparison of three antigen detection methods for diagnosis and therapeutic monitoring of malaria: a field study from southern Vietnam. *Trop Med Int Health* 2002; 7(4): 304-8.
 15. **Gasser RA Jr, Arevalo I, Miller RS, Magill AJ, Forney JR, Siriachaisinthop J, et al.** Preliminary evaluation of the Now[®] ICT Malaria P.f/P.v. rapid diagnostic device for the detection of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65 (3 suppl): S320.
 16. **Grobusch MP, Hanscheid T, Gobels K, Slevogt H, Zoller T, Rogler G, et al.** Comparison of three antigen detection test for diagnosis and follow-up of *falciparum* malaria in travelers returning to Berlin, Germany. *Parasitol Res* 2003; 89(5): 354-57.
 17. **Coleman R, Maneechai N, Rachapaew N, Kumpitak C, Soyseng V, Miller RS, et al.** Field evaluation of the ICT Malaria Pf/Pv immunochromatographic test for the detection of asymptomatic malaria in a *Plasmodium falciparum/vivax* endemic area in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 66(4): 379-83.
 18. **Llanos-Zavalaga F, Villacorta J, Reyes R, Lecca L, Mendoza D, Mayca J, et al.** Evaluación de la prueba ICT malaria P.f/P.v. (AMRD®) para la detección de *P. falciparum* y *P. vivax* en una zona endémica de la amazonía peruana. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2002; 19(1): 39-42.
 19. **Grobusch M, Jelinek T, Hanscheid T.** False positivity of rapid antigen detection test for diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria: issue appears to be more complicated than presented. *J Clin Microbiol* 1999; 37(11): 32781-82.
 20. **Tjitra E, Suprianto S, Dyer M, Currie B, Anstey N.** Detection of histidine rich protein 2 and panmalarial ICT Malaria P.f/P.v. test antigens after chloroquine treatment of uncomplicated *falciparum* malaria does not reliably predict treatment outcome in eastern Indonesia. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65(5): 593-98.
 21. **Marquino W, Ruebush T, Ylquimiche L, Hermenegildo I, Gutiérrez S, Arróspide N, et al.** Efficacy of combination therapy with sulfadoxine-pyrimethamine plus artesunate for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in northern coastal Peru. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62(3 Suppl): S329.
 22. **Tjitra E, Suprianto S, McBroom J, Currie B, Anstey N.** Persistent ICT malaria P.f/P.v panmalarial and HRP2 antigen reactivity after treatment of *Plasmodium falciparum* malaria is associated with gametocytemia and results in false-positive diagnoses of *Plasmodium vivax* in convalescence. *J Clin Microbiol* 2001; 39(3): 1025-31.
 23. **Iqbal J, Sher A, Rab A.** *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2-based immunocapture diagnostic assay for malaria; cross-reactivity with rheumatoid factors. *J Clin Microbiol* 2000; 38(3): 1184-86.
 24. **Llanos F, Huayta E, Mendoza D, Rosas A, Contreras C, Peinado J.** Conocimientos y percepciones de los trabajadores de salud de una zona endémica de malaria en el Perú sobre la prueba de diagnóstico rápido ParaSight-F. *Rev Med Hered* 2000; 11(4): 115-21.

Correspondencia: Nancy Arróspide V. Laboratorio de Malaria, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.
 Dirección: Cápac Yupanqui 1400. Lima 11, Perú.
 Teléfono: (511) 471-9920 anexo: 167.
 Correo electrónico: narrospide@ins.gob.pe